

Contributions
physiologiques et biochimiques
à l'étude de l'ovogenèse
chez le Triton
TRITURUS CRISTATUS CARNIFEX

THÈSE

PRÉSENTÉE À LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE GENÈVE
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES BIOLOGIQUES

PAR

WALBURG PORTMANN-RIEMANN

DE

Entlebuch et Schöpfheim (LU)

THÈSE N° 1595

Texte condensé de la thèse N° 1595 approuvé par la Faculté des Sciences.
Des copies en microfilms du texte complet peuvent être obtenues auprès de la
Bibliothèque publique et universitaire de Genève.
Le texte complet peut être consulté à cette bibliothèque ou à la
Bibliothèque Nationale Suisse à Berne.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Contributions
physiologiques et biochimiques
à l'étude de l'ovogenèse
chez le Triton
TRITURUS CRISTATUS CARNIFEX

THÈSE

PRÉSENTÉE À LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE GENÈVE
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES BIOLOGIQUES

PAR

WALBURG PORTMANN-RIEMANN

DE

Entlebuch et Schüpfheim (LU)

THÈSE N° 1595

Texte condensé de la thèse N° 1595 approuvé par la Faculté des Sciences.
Des copies en microfilms du texte complet peuvent être obtenues auprès de la
Bibliothèque publique et universitaire de Genève.

Le texte complet peut être consulté à cette bibliothèque ou à la
Bibliothèque Nationale Suisse à Berne.

AMBILLY-ANNEMASSE
IMPRIMERIE FRANCO-SUISSE

1973

La Faculté des sciences, sur le préavis du professeur M. FISCHBERG, directeur de thèse, et d'une commission composée des professeurs H. GLOOR et I. KAPETANIDIS, autorise l'impression de la présente thèse, sans exprimer d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 20 mars 1972.

Le Doyen :
Marc VUAGNAT.

THÈSE N° 1595



A MES PARENTS

Je tiens à exprimer ma reconnaissance au professeur M. FISCHBERG pour la bienveillance et l'intérêt qu'il m'a toujours témoignés au cours de ce travail.

Je remercie aussi tous les collaborateurs du laboratoire qui m'ont apporté aide et conseils tout au long de ce travail.

I. 1 SODIUM ET POTASSIUM DANS LES OVOCYTES DE *TRITURUS CRISTATUS*

INTRODUCTION

Selon KRÖGER (1966), on peut supposer que certains lieux génétiques des glandes salivaires de *Chironomus thummi* sont activés, formant des puffs *in vitro*, par un changement dans la proportion Na^+/K^+ intracellulaire; il en conclut que les mêmes lieux sont activés par des variations de la concentration ionique, pendant le développement normal. Les chromosomes polytènes des glandes salivaires des larves de Diptères et les chromosomes plumeux des ovocytes d'Amphibiens ont plusieurs points communs; on a émis l'hypothèse qu'un puff, de même qu'un anneau de Balbiani sur un chromosome de glande salivaire et une boucle latérale d'un chromosome plumeux, sont des exemples d'un seul et même phénomène de base, c'est-à-dire de la désspiralisation des fibres du DNA permettant la synthèse du RNA (CALLAN 1955, GALL 1963), le premier exemple comprenant une multitude de chromonémata, le deuxième seulement un ou deux.

Les boucles des chromosomes plumeux s'étendent et se rétractent à des stades particuliers de l'ovogenèse des Amphibiens, et certaines boucles sont plus grosses et, de ce fait plus développées à un stade plutôt qu'à un autre (CALLAN et LLOYD 1960).

En supposant que les concentrations relatives de Na^+ et de K^+ de la cellule soient en relation causale avec le développement ou la régression des puffs, on devrait trouver un certain changement dans les concentrations de Na^+ et de K^+ cellulaire pendant l'ovogenèse des Amphibiens; ce changement devrait être particulièrement évident dans les ovocytes proches de la maturité, quand les chromosomes et leurs boucles latérales se raccourcissent soudainement.

Nous avons donc dosé les quantités de sodium et de potassium dans le nucléoplasme des ovocytes d'Amphibiens à différents stades de l'ovogenèse.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Toutes les mesures ont été faites sur un matériel provenant des ovocytes de *Triturus cristatus cristatus* ou *Triturus cristatus carnifex*; pour les détails voir RIEMANN et al. 1969.

OBSERVATIONS

Dans le groupe des plus petits ovocytes (0,3-0,5 mm de $\varnothing$) le nucléoplasme et le cytoplasme ne présentent pas de différences appréciables quant à leur teneur en Na^+ et en K^+ , et le rapport molaire Na^+/K^+ est

d'environ 1 : 3. Dans le groupe (0,6-0,8 mm de $\varnothing$) les concentrations de Na^+ et de K^+ du nucléoplasme sont les mêmes que dans les ovocytes plus petits. Par contre, le cytoplasme contient moins de K^+ , de telle sorte que le rapport Na^+/K^+ est un peu au-dessus de 1 : 2. Dans les ovocytes plus grands la quantité des ions du nucléoplasme ne change que très peu, sinon pas du tout, mais le K^+ continue de diminuer dans le cytoplasme et le rapport Na^+/K^+ s'approche de 1 : 1. Nos résultats détaillés sont présentés dans le tableau 1 et à la figure 1a et 1b.

En fonction du développement de l'ovocyte le volume cytoplasmique est de plus en plus occupé par des plaquettes de vitellus. Il semblait donc possible, que la diminution de K^+ cytoplasmique, à mesure que les ovocytes grandissaient, soit due à l'envahissement du cytoplasme par des plaquettes relativement pauvres en K^+ . D'après cela, la concentration globale en K^+ pourrait apparemment décroître alors que les ovocytes contiennent de plus en plus de vitellus, mais la concentration de K^+ dans le cytoplasme clair pourrait rester la même ou augmenter. Nos mesures de Na^+ et de K^+ dans le résidu des plaquettes vitellines et dans le cytoplasme clair (tableau 2) montrent que les deux fractions ont la même quantité de K^+ . La concentration de K^+ diminue dans les deux fractions lorsque l'ovocyte augmente de taille.

TABLEAU 1.

Quantités de Na^+ et K^+ dans les noyaux et le cytoplasme des ovocytes de Triturus (en $\mu\text{eq/ml}$)

	Ovocytes diam. (mm)									
	0,3-0,5		0,6-0,8		0,9-1,1		1,2-1,5		> 1,5	
	Na^+	K^+	Na^+	K^+	Na^+	K^+	Na^+	K^+	Na^+	K^+
Cytoplasme	72 $\pm$ 3	181 $\pm$ 50	59 $\pm$ 4	165 $\pm$ 20	82 $\pm$ 1	92 $\pm$ 3	52 $\pm$ 8	58 $\pm$ 2	56 $\pm$ 6	50 $\pm$ 3
	33 $\pm$ 3	143 $\pm$ 20	53 $\pm$ 5	173 $\pm$ 20	71 $\pm$ 2	68 $\pm$ 2	61 $\pm$ 2	57 $\pm$ 2	53 $\pm$ 2	50 $\pm$ 3
	36 $\pm$ 2	174 $\pm$ 30	82 $\pm$ 5	129 $\pm$ 5	52 $\pm$ 9	56 $\pm$ 1	87 $\pm$ 0	56 $\pm$ 2	58 $\pm$ 2	59 $\pm$ 5
	57 $\pm$ 2*	119 $\pm$ 2*	62 $\pm$ 4	125 $\pm$ 15	69 $\pm$ 7	75 $\pm$ 10	113 $\pm$ 15	80 $\pm$ 3	52 $\pm$ 1*	52 $\pm$ 1*
	72 $\pm$ 2*	123 $\pm$ 1*	81 $\pm$ 4	153 $\pm$ 10	57 $\pm$ 5	57 $\pm$ 5	51 $\pm$ 1*	46 $\pm$ 1*	58 $\pm$ 1*	51 $\pm$ 1*
	54 $\pm$ 1*	111 $\pm$ 1*	42 $\pm$ 2	128 $\pm$ 15	57 $\pm$ 3	80 $\pm$ 11	76 $\pm$ 1*	72 $\pm$ 3*	—	—
	—	—	74 $\pm$ 1*	93 $\pm$ 2*	49 $\pm$ 2*	57 $\pm$ 3*	75 $\pm$ 1*	49 $\pm$ 0*	—	—
Moyenne	54	141	62	132	61	66	73	59	54	52
Nucléoplasme	46 $\pm$ 1	125 $\pm$ 30	65 $\pm$ 2	178 $\pm$ 20	40 $\pm$ 1	130 $\pm$ 12	42 $\pm$ 1*	96 $\pm$ 1*	63 $\pm$ 1	138 $\pm$ 20
	39 $\pm$ 1*	132 $\pm$ 1*	60 $\pm$ 5	180 $\pm$ 40	26 $\pm$ 0*	127 $\pm$ 2*	—	—	80 $\pm$ 4	138 $\pm$ 25
	35 $\pm$ 1*	126 $\pm$ 2*	34 $\pm$ 1	147 $\pm$ 15	—	—	—	—	37 $\pm$ 3	120 $\pm$ 27
	—	—	38 $\pm$ 1*	124 $\pm$ 2*	—	—	—	—	46 $\pm$ 1*	102 $\pm$ 2*
Moyenne	40	127	49	157	33	129	42	96	56	124

Les valeurs marquées par un * ont été obtenues avec un spectrophotomètre à flamme Zeiss. Chaque mesure représente la moyenne de trois mesures faites sur échantillons de nucléoplasme ou de cytoplasme provenant d'ovocytes de la taille indiquée.

TABLEAU 2.

Quantités de sodium et de potassium ($\mu\text{eq/ml}$) mesurées dans le cytoplasme clair et dans le vitellus des ovocytes de *Triturus* après centrifugation.

	Ovocytes diam. (mm)					
	0-0.7		0.75-1.1		1.5-1.75	
	Na ⁺	K ⁺	Na ⁺	K ⁺	Na ⁺	K ⁺
Couche claire de l'ovocyte complet	67	117	57	106	68	67
Vitellus ovocyte complet	—	95	54	74	47	39
Couche claire du cytoplasme	—	—	—	—	63	66
Vitellus du cytoplasme	—	—	—	—	54	36

DISCUSSION

Selon nos observations, les concentrations de Na⁺ et de K⁺ dans le noyau et dans le cytoplasme des petits ovocytes sans vitellus sont à peu près les mêmes. En cela nos résultats concordent avec ceux de KANNO et LÆWENSTEIN (1963) qui n'ont trouvé aucune différence de charge entre le cytoplasme et le nucléoplasme d'ovocytes encore plus petits que ceux que nous avons examinés. Leurs études portent sur *Xenopus* et *Triturus*.

Au cours de l'ovogenèse les concentrations de Na⁺ dans le noyau et le cytoplasme sont à peu près les mêmes, mais à mesure que l'ovocyte grandit, le K⁺ cytoplasmique diminue. Seulement dans les plus grands ovocytes il y a beaucoup plus de K⁺ dans le noyau que dans le cytoplasme. Ces observations ne sont pas en accord avec celles de NAORA et al. (1962). Ces derniers ont trouvé que dans les ovocytes de *Rana pipiens*, contenant du vitellus, les concentrations nucléaires de Na⁺ et de K⁺ étaient respectivement 3,2 et 2,4 fois les concentrations cytoplasmiques. Ils mentionnaient que le rapport Na⁺/K⁺ est de 1,1 dans le noyau, et de 0,72 dans le cytoplasme. NAORA et al. trouvaient surtout que dans les noyaux de grenouilles il y avait beaucoup plus de Na⁺ et K⁺ (250, 227 $\mu\text{eq/ml}$ respectivement) et que le rapport nucléaire Na⁺/K⁺ était bien plus bas (1,1) que celui que nous avons trouvé dans les noyaux des tritons. Nous ne pouvons en ce moment attribuer aucune signification à ces différences.

KRÖGER (1963, 1966) prétend avoir démontré une relation entre le phénomène des « puffs » et les conditions ioniques spécifiques du suc nucléaire des glandes salivaires des Diptères. Il a montré qu'en trans-

portant des glandes salivaires de *Chironomus thummi* dans des liquides artificiels ayant différents rapports Na^+/K^+ , les chromosomes produisaient des puffs de type connu mais anachroniques. Bien plus, en remplaçant le Na^+ par du K^+ dans le milieu de transplantation, il induisait une suite d'apparition de puffs, parallèle à la suite normale, qui a lieu entre la larve presque adulte et le milieu du stade prépupe. KRÆGER prétend que les loci génétiques qui sont activés *in vitro* par des ions, le sont aussi pendant le développement normal et qu'un changement dans l'équilibre ionique interne de la cellule est un agent primaire d'activation des gènes. Dans le suc nucléaire des ovocytes du triton nous n'avons trouvé aucun changement significatif dans les concentrations de Na^+ et de K^+ ; nous pensons qu'il est invraisemblable que des fluctuations dans les concentrations ioniques du suc nucléaire soient les seules responsables de l'extension ou de la rétraction des boucles latérales des chromosomes plumeux.

Il est regrettable que les ovocytes d'Amphibiens ne se prêtent pas facilement à des expériences du type de celles que KRÆGER a réalisées sur des glandes salivaires de Diptères. En outre, les cellules salivaires de Diptères ne se sont pas prêtées à des analyses ioniques.

Cependant, dans mes propres expériences réalisées en 1966 et parallèles à celles de KRÆGER, mais avec des Amphibiens (*Triturus cristatus*), les chromosomes plumeux isolés soit dans le NaCl ou dans le KCl ou encore dans un mélange de NaCl et KCl, n'apparaissaient pas différents à condition que les molarités des milieux fussent identiques. Nous n'avons pas pu trouver de différence entre les chromosomes isolés à partir d'ovocytes incubés de la même façon dans du NaCl et ceux provenant d'ovocytes incubés dans du KCl de même concentration molaire. Les noyaux d'ovocytes et les chromosomes plumeux subissent indubitablement des changements quand ils sont exposés à un milieu de concentrations différentes (DURYEE 1941, CALLAN 1952, MACGREGOR et CALLAN 1962), mais ces changements brutaux et irréversibles, ne sont pas comparables aux événements normaux de l'ovogenèse.

I. 2 INFLUENCE DU TRAITEMENT AU 17 β -ŒSTRADIOL ET DES HORMONES GONADOTROPES SUR LE CONTENU IONIQUE DES OVOCYTES DU TRITON.

INTRODUCTION

Des élévations du contenu ionique ont été observées chez différents animaux après un traitement à l'œstrogène et aux hormones gonadotropes. Les Urodèles injectés aux gonadotropes BENTLEY (1964) absorbaient du sodium de l'eau de leur milieu aquatique sans absorber l'eau elle-même, contrairement aux Anoures qui absorbaient les deux. De plus, FERRERI (1966) a trouvé que des animaux fraîchement hypophysectomisés perdent du sodium et du potassium dans leur milieu aquatique.

L'hormone œstrogène provoque chez les rats ovariectomisés une augmentation de sodium dans l'utérus tandis que le potassium diminue légèrement (KALMAN 1957).

Même chez un Invertébré *Chironomus thummi* KRÖGER (1966) a montré qu'une quantité croissante de l'hormone de mue, l'ecdysone, pendant le développement larvaire provoquait une élévation du sodium et du potassium intracellulaire. Dans ce chapitre nous essaierons de voir si l'œstradiol et les hormones gonadotropes ont une influence sur la concentration ionique en particulier sur celle des ovocytes. En outre, si les modifications observées après injection d'hormones sont comparables aux changements des concentrations ioniques observés au cours de l'ovogenèse.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les animaux injectés soit avec 400 U.I. d'hormones gonadotropes, soit avec 500 U.I. de 17β -œstradiol furent sacrifiés après 8 jours. Leurs ovocytes furent isolés sous paraffine et traités selon la méthode décrite précédemment (RIEMANN et al. 1969).

OBSERVATIONS

Tous les ovocytes traités aux hormones gonadotropes et au 17β -œstradiol ont montré dans leur cytoplasme une augmentation du sodium; dans la plupart des cas, le potassium a légèrement baissé étant inférieur à la valeur normale. Le contenu ionique du nucléoplasme subit des changements plus importants que celui du cytoplasme.

Les ovocytes de la catégorie 0,9 - 1,2 mm ont montré les changements les plus marqués de leur taux de sodium, (voir tableau 3, figures 1c et 1d).

TABLEAU 3.

Influence du 17β -œstradiol et des hormones gonadotropes sur le contenu en potassium et en sodium dans les ovocytes du Triton.

$\mu\text{eq/ml}$	Diamètre des ovocytes					
	0,6-0,8		0,9-1,2		1,5	
	Na ⁺	K ⁺	Na ⁺	K ⁺	Na ⁺	K ⁺
CYTOPLASME						
Développement normal	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
17β -œstradiol	115 %	62 %	245 %	115 %	150 %	94 %
Hormones gonadotropes	160 %	80 %	180 %	133 %		
NUCLEOPLASME						
Développement normal	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
17β -œstradiol	255 %	77 %	372 %	91 %	186 %	117 %
Hormones gonadotropes			383 %	96 %		

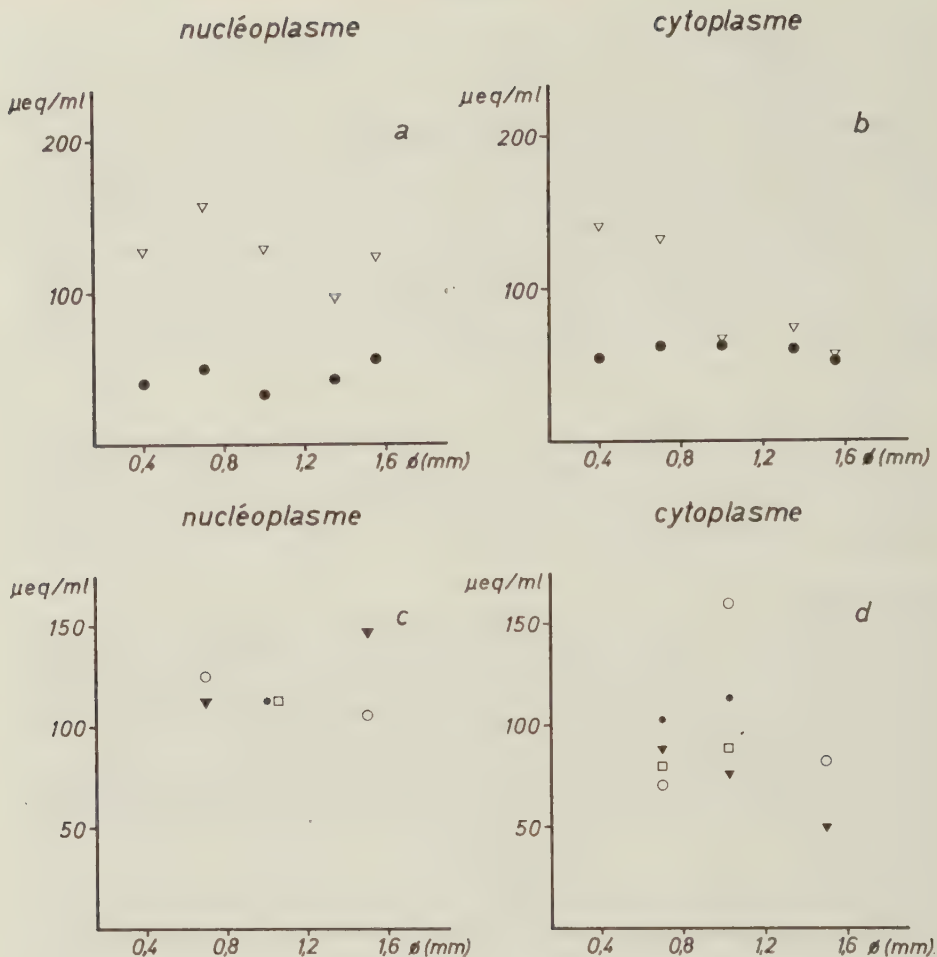


FIG. 1. — a) et b) quantité de Na^+ (●) et de K^+ (▽) dans les noyaux et le cytoplasme des ovocytes pendant le développement normal du Triton; c) et d) influence des hormones gonadotropes et du 17β -œstradiol sur le contenu en K^+ et en Na^+ dans le nucléoplasme et dans le cytoplasme. (○ Na^+ et (▼) K^+ après l'œstradiol; (*) Na^+ et (□) K^+ après des hormones gonadotropes.

DISCUSSION

Les mesures faites dans les ovocytes indiquent (en accord avec les travaux mentionnés dans l'introduction) que les ions de sodium sont incorporés tandis que les ions de potassium diminuent légèrement.

Si on compare ces résultats avec les mesures données dans le chapitre I. 1, il est alors probable que ces deux hormones soient responsables des changements ioniques pendant l'ovogenèse : sous leur influence le sodium est incorporé continuellement (car sa quantité reste constante

dans les ovocytes croissants malgré la grande augmentation de volume), tandis que le contenu en ions de potassium diminue lentement. Bien que les méthodes de préparation aient été les mêmes que celles utilisées pour les mesures de potassium et de sodium durant le développement normal, les animaux traités aux hormones présentent plus de variations, quoique chaque mesure comprenne le matériel de deux à six tritons selon la grandeur des ovocytes choisis.

II. 1 LE CATABOLISME DES ŒSTROGENES CHEZ LE TRITON.

INTRODUCTION

L'existence et la biosynthèse des hormones œstrogènes ont fait l'objet d'études chez les Anoures *Rana temporaria* (OZON et al. 1964), *Rana pipiens* (DALE 1962), *Xenopus laevis* (GALLIEN et al. 1960) et *Bufo vulgaris* (Chieffi et al. 1963) et chez les Urodèles *Pleurodeles waltlii* (OZON 1967). En revanche, le catabolisme des œstrogènes n'a été que peu étudié chez les Amphibiens. Les activités enzymatiques suivantes ont cependant été démontrées *in vitro* chez *Rana temporaria* (OZON et al. 1963) et *Pleurodeles waltlii* (BREUER et al. 1963); en particulier les 16α -, 16β - et 17β - hydroxystéroïde NAD (P) - oxydoréductases. Chez ces derniers, les activités enzymatiques ont été également étudiées *in vivo* durant les stades du développement embryonnaire. Dans ces stades, qui précèdent ceux de la différenciation gonadique, seule la 17β - hydroxystéroïde NAD (P) - oxydoréductase est présente; au moment du début de la différenciation apparaissent la 17α - hydroxystéroïde - oxydoréductase et la 16α - hydroxylase et uniquement après la métamorphose on peut démontrer la conjugaison des œstrogènes. En outre, on a étudié le métabolisme du 17β - œstradiol chez le têtard, aussi bien mâle que femelle de l'Anoure *Xenopus laevis* (RAO et al. 1968).

Dans ce travail nous voulons montrer que l'Amphibien utilisé, *Triturus cristatus carnifex*, tout comme les autres espèces mentionnées ci-dessus, possède les enzymes nécessaires à la métabolisation des hormones œstrogènes. Dans ce but nous avons injecté le 17β - œstradiol - 4 - ^{14}C et l'œstrone - 4 - ^{14}C dans des *Triturus cristatus carnifex* aussi bien mâles que femelles. Puis dans les 48 heures suivant l'injection on analyse les œstrogènes marqués, excrétés dans l'eau d'aquarium (Matériel et Méthodes voir STARKA et al. 1972).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Notre étude montre que les Tritons sont capables de métaboliser de façon appréciable jusqu'à 26. % de l'œstrone et de l'œstradiol. Sur cette quantité seulement 3,5 - 5 % sont excrétés sous forme non altérée ou sous forme conjuguée durant les 2 premiers jours de l'expérience. Au deuxième jour, la proportion relative des œstrogènes sous leur forme initiale décroît par rapport à leurs métabolites. La conjugaison des métabolites des œstrogènes n'est pas très élevée comparée à celle de l'Anoure adulte *Rana pipiens* qui révèle un taux de conjugaison de phénols exogènes de 90. % (MAICKEL et al. 1958), alors que chez l'adulte *Rana temporaria* on trouve une sulfoconjugaison limitée des métabolites de la

déhydroépiandrostérone (STARKA et al. 1967). Contrairement aux animaux adultes, les têtards de *Rana pipiens* ne conjuguent pas du tout le phénol (MAICKEL et al. 1958) comme (OZON 1963) l'a trouvé pour les larves de *Pleurodeles wallii* qui révèlent une conjugaison unique à partir du stade 55, stade où débute la différenciation sexuelle des gonades. Cette observation, de même que celle d'une conjugaison limitée des métabolites des œstrogènes observée dans ce travail, indique que, chez les Tritons, cette importante réaction de la dégradation des stéroïdes n'est pas prononcée. Un autre fait important du métabolisme des œstrogènes chez les Amphibiens est la quantité relativement élevée de métabolites polaires hydroxylés (STARKA et al. 1967, SCHNEIDER 1965, BREUER et al. 1965). Dans nos résultats ces dérivés représentent 34-80 % des métabolites de l'œstrogène étudié. A l'exception de la 2-méthoxy-œstrone les produits hydroxylés ressemblent en général à ceux trouvés chez *Xenopus laevis* (RAO et al. 1968). En résumant nos observations on peut dire que le triton *Triturus cristatus carnifex* possède des systèmes enzymatiques pour transformer le 17β -œstradiol en œstrone et vice-versa et en 17α -œstradiol, mais surtout en métabolites polaires hydroxylés en différentes positions, 6α , 15α , 16α , 16β , et un méthoxylé en position 2.

II. 2. LOCALISATION DU 17β -ŒSTRADIOL- ^{14}C CHEZ LES TRITONS *TRITURUS CRISTATUS CARNIFEX*.

INTRODUCTION

A la suite de ces résultats l'on peut se poser la question : dans quelle cellule le 17β -œstradiol est-il incorporé ?

Peut-on le retrouver dans les cellules hépatiques puisqu'on sait que chez *Xenopus laevis* (FOLLETT 1968), c'est là qu'il déclenche la synthèse des protéines à l'origine du vitellus ; ou bien pénètre-t-il dans d'autres cellules du tractus génital car on sait qu'il pénètre dans l'utérus chez la rate ? Bref quelles sont les cellules effectrices où nous allons retrouver l'hormone injectée ? Seraient-ce peut-être les ovocytes ?

Ceci apporterait alors la preuve que, chez le Triton, l'hormone œstrogène est impliquée directement dans l'ovogenèse et, en ce cas, peut jouer un rôle précis lors de certaines étapes de la maturation d'un ovocyte.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La répartition de l'œstradiol- ^{14}C dans le foie, le sang et les ovocytes a été déterminée directement par scintillation liquide. Dans les ovocytes la radioactivité a été localisée par autoradiographies.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les mesures de scintillation donnent l'image suivante de la répartition relative de l'œstrogène- ^{14}C dans le foie, le sang et les ovocytes : la plus forte radioactivité s'est trouvée dans le sang tandis que les ovocytes sont marqués plus fortement que le foie, 10 à 30 fois, voir tableau 4. Les autoradiographies révèlent que l'œstradiol- ^{14}C est réparti uniformément dans le noyau et le cytoplasme, 48 heures après l'injection. Seuls quelques ovocytes riches en vitellus montrèrent davantage de marquage dans le noyau.

TABLEAU 4.
*Distribution relative des œstrogènes-¹⁴C
dans le foie, le sang et l'ovaire.*

Matériel	Animal	cpm
1 μ l sang	E ₂	800
1 μ l sang	G ₁	1620
1 μ g foie	E ₃ + G ₃	2
1 μ g ovaire total	E ₂	19
1 μ g ovocytes grands	G ₃	42
»	E ₃	43
»	E ₂	50
»	E ₁	69
»	G ₁	96

Comme nous avons choisi un seul intervalle de temps pour procéder à la fixation (48 heures après l'injection) et comme nous n'avons pas fait la cinétique de l'incorporation nous ne pouvons exclure la possibilité que l'œstradiol-¹⁴C ait une autre localisation à un autre moment.

L'important pour nous fut cependant de démontrer la pénétration de l'œstradiol dans les ovocytes.

II. 3 L'INCORPORATION D'URIDINE-³H IN VIVO ET IN VITRO ET DES ACIDES AMINES-³H DANS LES OVOCYTES DE *TRITURUS CRISTATUS CARNIFEX* APRÈS UN TRAITEMENT A L'ŒSTROGENE

INTRODUCTION

Après les arguments biochimiques que nous venons d'apporter en faveur de l'existence d'hormones œstrogènes chez le Triton, leur possibilité de pénétration dans les ovocytes, se pose à présent le problème du rôle de ces hormones au niveau des cellules. De nombreux travaux chez les Mammifères visent à déterminer le rôle de l'œstrogène au niveau des cellules effectrices. Dans quelle mesure les métabolismes hormonaux chez le Triton sont-ils comparables à ceux des Mammifères ?

HISAW (1959) émet l'hypothèse dans une étude comparative sur les cycles reproductifs des Vertébrés, que ceux-ci correspondent physiologiquement malgré les différences morphologiques. En outre, la croissance folliculaire et l'ovulation chez les Urodèles seraient homologues à la phase folliculaire chez les Mammifères.

On sait de longue date (ASTWOOD 1938) que les œstrogènes provoquent chez la rate une modification de la perméabilité cellulaire dans l'utérus. MUELLER (1965) montre que cet effet est suivi d'une accéléra-

ration de la synthèse des phospholipides, puis des acides ribonucléiques, et finalement des protéines; en outre le contenu en DNA des cellules de l'utérus reste stable. On peut se demander si dans l'ovocyte du Triton l'œstrogène ne jouerait pas un rôle semblable dans la synthèse des macromolécules.

Précédemment nous venons de montrer que chez le Triton l'injection d'hormones œstrogènes modifie la perméabilité cellulaire (chapitre I. 2). Par ailleurs GALL et CALLAN (1962) ont montré que les ovocytes de Triton étaient le siège d'une active synthèse d'acides ribonucléiques; cette synthèse étant fortement stimulée par l'injection d'hormones gonadotropes.

Nos propres expériences vont consister à :

1) injecter *in vivo* à des Tritons simultanément une hormone de nature chimique connue, l'œstradiol-17 β et de l'uridine-³H.

2) ensuite à reproduire la même expérience *in vitro* avec des fragments d'ovaire survivants dans un milieu de culture approprié contenant le 17 β -œstradiol et l'uridine-³H.

3) Puis, toujours *in vitro*, fournir à ces fragments d'ovaire des acides aminés marqués. Ces expériences sont faites *in vitro*, car *in vivo* elles exigeraient des quantités d'acides aminés marqués considérables, pour déceler un marquage au niveau des ovocytes.

MATÉRIEL ET MÉTHODES (voir PORTMANN-RIEMANN 1971).

RÉSULTATS

Le tableau 5 montre l'incorporation *in vivo* de l'uridine-³H dans les ovocytes 48 à 60 heures après l'injection.

Les résultats sont donnés dans le tableau 5 en pourcentage par rapport au témoin évalué à 100 %. De faibles doses d'hormones de 200 U.I. sont susceptibles, dans la plupart des cas, de stimuler *in vivo* la synthèse de RNA. Lorsqu'on augmente la dose il se produit chez certains animaux une stimulation, chez d'autres une inhibition. Si les doses atteignent 10.000 U.I., seuls les petits ovocytes sont encore stimulés dans leur synthèse de RNA.

Les résultats de la synthèse de RNA d'ovocytes qui ont séjourné 48-72 heures dans le milieu de culture contenant de 25 à 20.000 U.I. d'œstrogène sont donnés dans le tableau 6. Les faibles doses de 25 à 500 U.I. dans 1,7 ml de milieu provoquent parfois une incorporation accentuée d'uridine-³H. Lorsque le milieu de culture contient des quantités de 2.500 à 7.500 U.I. il se produit une stimulation de la synthèse d'uridine dans tous les ovocytes examinés. Une dose relativement élevée (20.000 U.I.) provoque une stimulation de la synthèse chez les petits ovocytes, ce qui a été également mis en évidence *in vivo*.

Le tableau 7 montre les résultats de l'incorporation *in vitro* d'acides aminés tritiés : leucine-³H, phénylalanine-³H et tryptophane-³H ajoutés dans les proportions 1 : 1 : 1, après 48 heures. L'influence de 7.500 U.I. d'œstrogène sur l'incorporation des acides aminés est faible. Seuls les ovocytes riches en vitellus subissent une faible stimulation de synthèse alors que les petits sont inhibés.

TABLEAU 5.

Incorporation d'Uridine-³H après 48-60 heures dans les ovocytes in vivo, après traitement à l'œstradiol-17β.

Animal	Uridine- ³ H	Œstradiol-17 β dans 0.1 ml de tampon	Pourcentage de l'Uridine- ³ H incorporé dans les ovocytes de diamètre 0.6-1.75 mm				Date de l'expérience
			Ø 0.6	Ø 0.9	Ø 1.0-1.25	Ø 1.4-1.75	
U-1	30 μC	200 U.I.	90%	—	200%	170%	26-09-66
U-2	»	200 U.I.	100%	—	50%	175%	26-09-66
U-3	»	400 U.I.	—	116%	144%	144%	26.01.67
U-4	»	400 U.I.	—	95%	174%	100%	26.01.67
U-5	»	500 U.I.	120%	85%	—	100%	—
U-6	»	600 U.I.	88%	92%	70%	87%	17.12.66
U-7	»	600 U.I.	100%	78%	68%	64%	17.12.66
U-8	»	10 000 U.I.	185%	150%	45%	57%	17.12.66
Contrôles un ovocyte non traité	»	0 U.I.	100%	100%	100%	100%	—
	0 μC	0 U.I.	0%	0%	0%	1%	—

TABLEAU 6.

Incorporation d'Uridine-³H après 48-60 heures dans les ovocytes in vitro, après traitement à l'œstradiol-17β.

Animal	Uridine- ³ H dans 1,7 ml de milieu d'incubation	Œstradiol-17 β dans 1,7 ml de milieu d'incubation	Pourcentage de l'Uridine- ³ H incorporé dans les ovocytes de diamètre 0.4-1.75 mm				Date de l'expérience
			Ø 0,4-0,5	Ø 0,7-0,9	Ø 1,0-1,25	Ø 1,5-1,75	
Ut-1	30 μC	25 U.I.	50%	100%	97%	—	10.10.68
Ut-2	»	50-100 U.I.	50%	90%	49%	—	10.10.68
Ut-3	»	100 U.I.	50%	230%	73%	—	10.10.68
Ut-4	»	100 U.I.	—	50%	260%	—	3.10.68
Ut-5	»	500 U.I.	—	55%	75%	—	3.10.68
Ut-6	»	500 U.I.	50%	85%	25%	11%	19.01.67
Ut-7	»	2 000 U.I.	50%	25%	43%	80%	19.01.67
Ut-8	»	2500 U.I.	—	320%	190%	150%	29.11.66
Ut-9	»	2500 U.I.	—	30%	75%	—	3.10.68
Ut-10	»	5000 U.I.	—	300%	105%	175%	29.11.66
Ut-11	»	7500 U.I.	—	200%	135%	170%	29.11.66
Ut-12	»	20 000 U.I.	170%	40%	100%	80%	19.01.70
contrôle	»	—	100%	100%	100%	100%	—

TABLEAU 7.

Incorporation in vitro de Phenylalanine-³H, Leucine-³H et Tryptophane-³H après 48 heures dans les ovocytes de Triturus cristatus.

Animal	Acides Aminés dans 1,7 ml d'milieu d'incubation	Œstradiol-17 β dans 1,7 ml de milieu d'incubation	Pourcentage des Acides Aminés- ³ H dans les ovocytes des diamètres 0.75-1.4 mm		
			Ø 0.75	Ø 1.0	Ø 1.4
AA-1	45 μ C	7500 U.I.	71%	81%	107%
AA-2	45 μ C	7500 U.I.	75%	62%	117%
Contrôles	45 μ C	—	100%	100%	100%

DISCUSSION

Dans les cellules de l'utérus de la rate une stimulation maximale de la synthèse de RNA de 170 % est atteinte 24 heures après l'injection d'œstrogène. Des valeurs comparables ont été constatées après 48-60 heures dans les ovocytes du *Triturus cristatus*. Dans les grands ovocytes et ceux de taille moyenne, de faibles doses d'œstrogène sont suffisantes aussi bien *in vivo* qu'*in vitro* à la stimulation de la synthèse de RNA. Par contre pour les petits ovocytes, il faut de très fortes doses.

Ces expériences ne nous permettent pas de tirer de conclusions sur la nature des RNA synthétisés, car aussi bien le RNA ribosomique que le RNA messenger peuvent être stables (CRIPPA et al. 1967 et SCHERRER et al. 1968). Cependant CHURCH et al. (1970) ont trouvé chez le lapin traité à l'œstrogène des différences entre le « DNA like RNA » du foie et de l'utérus en utilisant les méthodes d'hybridation moléculaire.

Chez la rate la synthèse de RNA est suivie d'une augmentation de 40 % de la synthèse de protéines. Nos expériences d'incorporation *in vitro* chez le Triton présentent après adjonction d'œstradiol une inhibition de l'incorporation des acides aminés marqués dans les petits et moyens ovocytes et seulement une stimulation faible dans les gros ovocytes. Chez *Xenopus* qui révèle des métabolites d'œstrogène semblables à ceux de *Triturus cristatus* (RAO et al. 1968), FOLLETT (1968) trouve que l'œstradiol bien que stimulant la synthèse des protéines au niveau du foie, ne stimule pas celles des ovocytes. FOLLETT réussit à neutraliser cette inhibition en injectant de l'œstradiol et de l'hormone folliculostimulante.

Dans quelle mesure les doses d'œstrogènes utilisées dans ces expériences sont-elles encore physiologiques ? JENSEN (1965) estime que 0,1 U.I. d'œstrogène/gr de rate, FOLLETT et REDSHAW (1968) que 10 U.I./gr de *Xenopus* seraient des doses physiologiques. Avec 25 U.I./gr de *Triturus cristatus* nous obtenons la stimulation maximale de la synthèse de RNA. Comme les hormones furent administrées par injections sous-cutanées, sous forme d'émulsion, et que de ce fait des pertes se produisent par le transport et par la résorption, on peut considérer que toutes les doses utilisées, sauf les très fortes, sont des doses physiologiques.

Quelques remarques s'imposent : les résultats indiquent que la sensibilité à l'hormone varie entre les différentes catégories d'ovocytes. Il est possible que de ce fait nous ayons montré qu'il existe pendant l'ovogenèse une ou plusieurs périodes durant lesquelles ces cellules sont particulièrement sensibles dans la réaction de l'œstradiol. Par ailleurs la réaction des Tritons à l'œstradiol injecté est très constante du point de vue qualitatif. Mais des différences quantitatives très sensibles apparaissent en ce qui concerne les réactions individuelles des différents animaux. Cela pourrait s'expliquer par la teneur endogène en hormones qui varierait d'un animal à l'autre au début de chaque expérience.

En conclusion je voudrais faire remarquer que les différents résultats montrent une homologie de l'action de l'œstrogène chez les Mammifères et chez les Urodèles. En premier lieu la stimulation de la synthèse de RNA et des protéines est de nature très semblable. Ensuite les changements du métabolisme des œstrogènes révèlent des étapes identiques. De plus, le déplacement de la proportion Na^+/K^+ va dans le même sens dans les cellules de l'utérus de la rate (KALMAN 1957) et dans les ovocytes des Amphibiens tel qu'il a été démontré dans ce travail.

III. — *Analyse des protéines dans les petits et grands ovocytes de Triturus cristatus carnifex.*

INTRODUCTION

On sait que des protéines sont impliquées dans la régulation des gènes. Un certain nombre de travaux ont abouti à attribuer à des *protéines acides* la responsabilité de déclencher l'activité d'un gène (WANG 1968; DALY et al. 1952). Ce rôle d'activation consisterait en une dérèpression d'un ou plusieurs cistrons de DNA (SHELTON et al. 1970; TENG et al. 1970). D'autres recherches conduisirent plutôt à imputer la responsabilité aux *protéines basiques* (BUSCH 1965).

L'ovocyte de Triton nous apparaît comme le lieu par excellence où se produit une activité génétique facilement observable. En effet, les modifications sur les chromosomes plumeux sont accompagnées d'une synthèse de RNA détectable (GALL and CALLAN 1962). Dans ce chapitre, il nous a paru intéressant d'étudier les protéines présentes à deux stades différents de l'ovogenèse.

Une première tentative d'analyse fut effectuée sur les *protéines solubles*. Cependant, lors de la centrifugation exigée pour l'élimination des plaquettes vitellines des ovocytes, la chromatine mélangée avec le vitellus entraîna avec elle dans le culot de centrifugation toutes les protéines liées aux acides nucléiques et de ce fait cette fraction contient toutes les protéines qui pourraient avoir une fonction génétique du type de celle connue chez les microorganismes. S'il existe une analogie dans ce domaine entre les microorganismes et les cellules animales, la mise en évidence des protéines nouvelles dans une certaine classe d'ovocytes, n'existant ni dans les plus jeunes ovocytes ni dans les cellules de foie témoins, pourrait comprendre des protéines d'activité génétique régulatrice ou autre.

D'après des travaux sur *E. coli* il semble que nous ne devons surtout

pas négliger les protéines de poids moléculaire faible et présentes en quantité très limitée, chez *E. coli* on a démontré que les régulateurs sont dans cette catégorie. De ce fait nous avons abandonné l'analyse des protéines solubles pour nous attacher à celle de fraction des protéines liées à la chromatine. Comme matériel témoin, nous avons utilisé les cellules hépatiques.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Cellules Hépatiques.

a) Isolation des noyaux.

Les lobes hépatiques isolés sont lavés dans la solution A à 4°C (0,05 M Tris-HCl pH 7,55, 0,25 M sucrose, 0,025 M KCl et 0,01 M $MgCl_2$). On découpe alors l'organe aux ciseaux en fragments minuscules. Cette suspension est ensuite homogénéisée à 4 reprises (4°C) à l'aide d'un homogénéisateur en téflon de taille B. L'homogénat est ensuite filtré à travers une couche, puis à travers six épaisseurs de gaze. Le filtrat est centrifugé à 1200xg pendant 10 mn. Le surnageant est recentrifugé 10 mn à 1200xg. Les deux culots de centrifugation sont réunis et recouverts de solution A, additionnée de 1/10 V/V d'une solution à 5 % du détergent Triton-X dans un tampon Tris-HCl à 0,01 M pH 7,55. Pour effectuer la lyse cellulaire, on homogénéise modérément la fraction cellulaire pendant 1 et 1 1/2 mn à la température ambiante.

La fraction contenant des noyaux est, par des brèves centrifugations répétées (600xg, 4°C, 3 mn), débarrassée de la plus grande partie du pigment, jusqu'à atteinte d'une légère teinte grise.

b) Isolation de la chromatine.

La chromatine est extraite d'après la méthode décrite par HANCOCK 1969.

c) Le fractionnement de la chromatine en protéines basiques = Lb et acides = La, suit en général la méthode décrite par BENJAMIN et al. 1968.

B. Isolation des protéines acides et basiques à partir d'ovocytes de deux tailles différentes.

Les ovocytes sont sélectionnés en deux catégories dans la paraffine : des petits de diamètre 0,1 - 0,6 mm et des grands de diamètre 0,6 - 1,5 mm. Comme pour les cellules hépatiques, on les introduit dans le milieu A à 4°C, ensuite on centrifuge à 1200xg pendant 10 mn, afin d'éliminer la paraffine et on suit le traitement d'isolation et de fonctionnement de la chromatine décrite pour les cellules hépatiques. Nous appellerons la fraction contenant les protéines basiques des grands ovocytes Bb, celle des petits ovocytes Ab, la fraction contenant les protéines acides des grands ovocytes Ba et celle des petits ovocytes Aa.

C. Analyse électrophorétique des protéines.

Pour l'électrophorèse à disques on utilise la méthode de DAVIS (1964) modifiée. L'acrylamide est recristallisée selon LØNING (1967). La concentration en acrylamide est augmentée de 7,5 % jusqu'à 15 ou 20 % pour l'étude des protéines acides et basiques, ceci afin d'obtenir un pouvoir de résolution efficace. Tous les gels sont préparés avec du SDS selon

SHAPIRO et al. (1967). Selon cette technique les protéines migrent proportionnellement à leur liaison au SDS, migration qui semble être une relation directe avec le poids moléculaire des protéines (WEBER et al. 1969). Afin d'obtenir une meilleure séparation, on utilise des gels de 12 cm ce qui permet de séparer 15 - 75 μ g de protéines par gel. L'électrophorèse est effectuée avec 1,5 - 2,5 mA / tube pendant 120 - 140 mn.

La coloration se fait selon WEBER et al. (1969) au bleu de Coumassie (Serva Heidelberg), car le bleu naphthol ne colore pas toutes les bandes. La décoloration utilisée est d'après HADJI-AZIMI (comm. pers.).

Les gels conservés dans une solution d'acide acétique à 75 % sont écrasés entre deux plaques de verre et analysés au microdensitomètre Joyce-Loebl, photographiés et dessinés (voir fig. 2).

D. Dialyse des Protéines.

On solubilise les protéines concentrées et séparées des acides nucléiques comme décrit ci-dessus et on les dialyse selon SHELTON et al. (1970).

E. L'estimation de la concentration des protéines est obtenue en mesurant l'absorption optique à 280 $m\mu$ en prenant la formule $E\%_{280\ m\mu} = 6,5$ (RICHARDSON 1966).

RÉSULTATS

Tous les gels présentés peuvent être comparés entre eux puisqu'ils proviennent de la même électrophorèse. D'autre part les différentes analyses sont parfaitement comparables entre elles.

a) Protéines basiques.

L'analyse des protéines basiques des petits (=Ab) et des grands (=Bb) ovocytes fournit 15 bandes chez les petits et 16 chez les grands. Ces bandes comparées entre elles montrent au maximum quatre concordances qualitatives : Ab 1/Bb 1, Ab 4/Bb 3, Ab 5/Bb 3 et éventuellement Ab 9/Bb 4 et Ab 16/Bb 7 fig. 2). Les zones Ab 16 et Bb 7 pourraient d'après leur poids moléculaire être dans la région des histones. A la même région on trouve une concordance de Lb 4 à la fois avec Ab 16 et Bb 7, en comparant les protéines basiques des cellules hépatiques témoins avec celles des ovocytes. Une autre bande identique se retrouve encore en Lb 3/Bb 2 et Lb 3/Ab 3.

Dans l'ensemble les petits ovocytes ont davantage de bandes dans la région des gros poids moléculaires alors que les gros ovocytes ont un spectre plus étalé dans le domaine des poids moléculaires faibles.

b) Protéines acides.

L'électrophorèse des protéines acides révéla 7 bandes pour le foie (=La), 14 pour les grands ovocytes (=Ba) et 10 pour les petits (=Aa). Entre les deux types d'ovocytes on a quatre concordances, en l'occurrence Aa 1/Ba 1, Aa 3/Ba 2, Aa 9/Ba 6 et Aa 10/Ba 7. Deux concordances existent entre les protéines acides des ovocytes et celles du foie : La 1/Aa 5 et La 2/Ba 5.

Cependant les méthodes d'extraction utilisées, ne permettent pas d'éliminer une contamination éventuelle des protéines acides par les protéines vitellines, on a également analysé l'extraction neutre qui suit

le traitement au HCl. Cette fraction à partir des petits ovocytes était insuffisante pour permettre une électrophorèse. Celle à partir des grands ovocytes montra une bande concordante : Ba 3/Bn 4. Ceci pourrait signifier une contamination par les protéines vitellines. Si les protéines vitellines des deux classes d'ovocytes n'étaient pas identiques, il faudrait considérer les bandes Ba 3, Ba 6, Ba 8, Ba 11, de même qu'Aa 2, Aa 5 et Aa 9 comme de la contamination provenant du vitellus.

Tout comme pour les protéines basiques, les petits ovocytes révèlent davantage de bandes dans le domaine des gros poids moléculaires et les grands ovocytes en montrent plutôt dans le domaine des poids moléculaires moyens (voir fig. 2).

DISCUSSION

En comparant les spectres des protéines des grands et des petits ovocytes, on établit des différences aussi bien entre les protéines acides qu'entre les basiques. Lorsqu'on compare ces résultats aux protéines témoins extraites du foie, on voit que le spectre des ovocytes est plus riche, aussi bien pour les protéines acides que basiques. Un certain nombre de protéines présentes dans les ovocytes et absentes dans le foie pourrait bien représenter les activateurs génétiques, car il semble de ne pas avoir une contamination des protéines solubles dans la cellule (R. HANCOCK, comm. pers.). Et l'on voit que d'après les résultats ces molécules pourraient être aussi bien des protéines basiques que des protéines acides.

Il est intéressant de relever que les grands ovocytes se distinguent des petits, par l'apparition de protéines de faibles poids moléculaires, ceci aussi bien pour les protéines acides que basiques.

Nos connaissances sur les régulateurs nous montrent qu'il s'agit de protéines de faibles poids moléculaires. Cette condition est remplie aussi bien parmi les protéines acides que parmi les protéines basiques chez les grands ovocytes (fig. 2). Mais la méthode utilisée séparant les protéines selon leur poids moléculaire, ne donne pas de discrimination entre différentes protéines de poids moléculaires voisins. Et de ce fait nos bandes pourraient représenter chacune plusieurs protéines. En outre les protéines de régulation ne doivent pas se trouver en grande quantité dans les cellules, leur rôle étant fugace. Il faut aussi se demander si nos techniques d'analyse qui exigent des quantités de protéines relativement élevées sont bien appropriées. L'étude des protéines de régulation devrait se faire soit par des microméthodes, soit en fournissant à des cellules stimulées, par exemple par des hormones, des acides aminés marqués. Ainsi on devrait pouvoir marquer à côté d'autres protéines celles de régulation, dans la mesure où elles agissent directement comme activateurs au niveau des gènes. C'est pour ces raisons que le présent travail doit être considéré comme un inventaire des protéines acides et basiques, groupées par leur poids moléculaire identique et nous ne nous sentons pas autorisé à tirer des conclusions, soit sur la présence, soit sur la nature de ces protéines décrites, qui pourraient correspondre aux protéines régulatrices chez *E. coli* comme par exemple les facteurs isolés : M, CAP et Psi (BURGESS 1971).

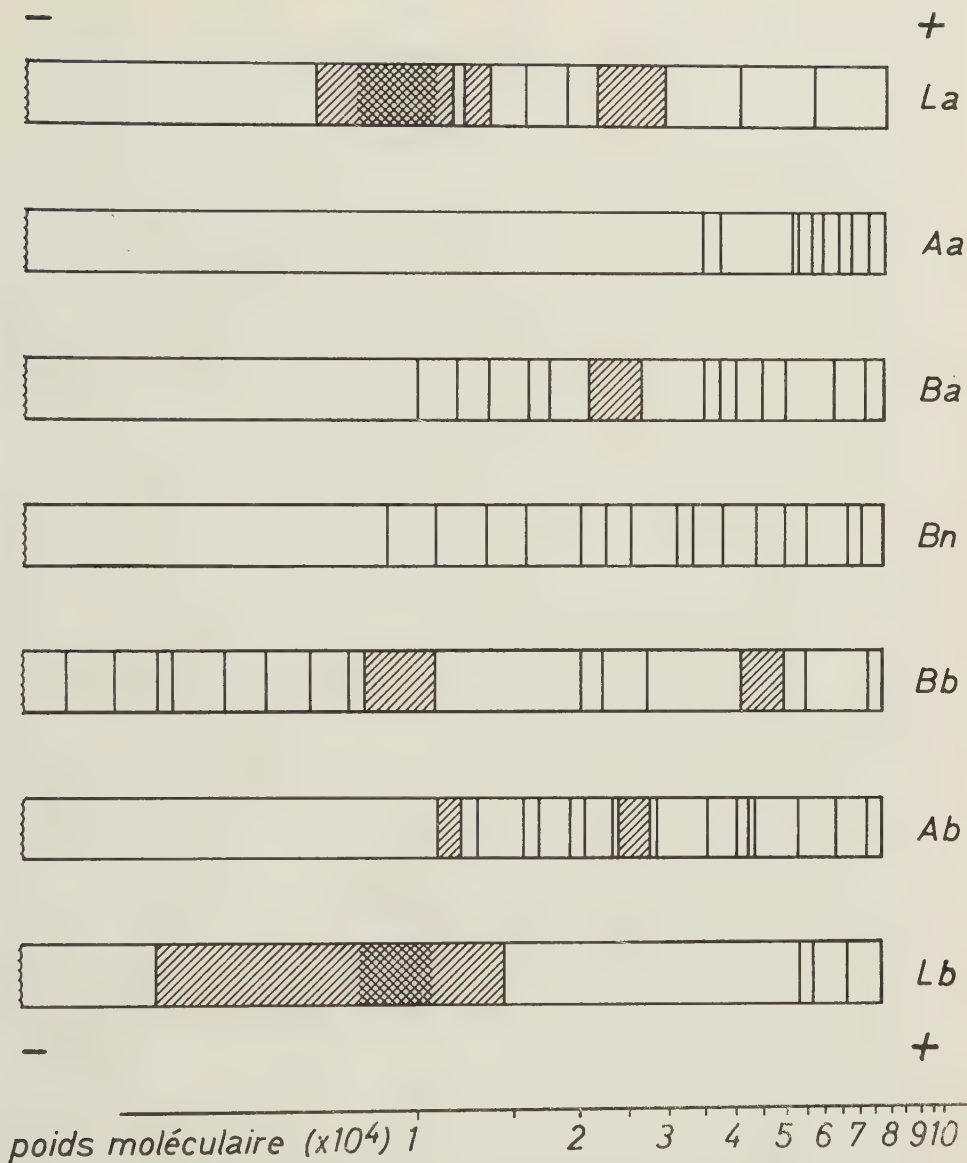


FIG. 2. — Représentation de toutes les protéines des grands et petits ovocytes de même que du foie du Triton, sur des gels de polyacrylamide-SDS, ne montrant que la moitié supérieure du gel. *La* = Protéines acides du foie; *Aa* = Protéines acides des petits ovocytes; *Ba* = Protéines acides des grands ovocytes; *Bn* = Protéines « neutres »; *Bb* = Protéines basiques des grands ovocytes; *Ab* = Protéines basiques des petits ovocytes; *Lb* = Protéines basiques du foie.

BIBLIOGRAPHIE

- ASTWOOD, E.B. (1938). A six hour assay for the quantitative determination of estrogen. *Endocrinology* 23 : 25-31.
- BENJAMIN, W. et A. GELLHORN (1968). Acidic Proteins of Mammalian Nuclei : Isolation and Characterization. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 59 : 262-268.
- BENTLEY, P.J. et H. HELLER (1964). The Action of Neurohypophysial Hormones on the Water and Sodium Metabolism of Urodele Amphibians. *J. Physiol.* 171 : 434-453.
- BREUER, H., R. OZON et CH. MITTERMAYER (1963). Stoffwechsel von Steroidhormonen bei Vertebraten, I. Vorkommen von Hydroxysteroid Dehydrogenasen bei Fischen und Amphibien. *Z. Physiol. Chem.* 333 : 272-281.
- BREUER, H. et R. OZON (1965). Métabolisme des hormones stéroïdes androgènes et œstrogènes chez les Vertébrés inférieurs. *Arch. Anat. Micros. Morph. Exp.* 54 : 17.
- BURGESS, R.R. (1971). RNA polymerase. *Ann. Review Biochemistry* 40 : 711-740.
- BUSCH, H. (1965). V. Functions of the Histones. In *Histones and other Nuclear Proteins* (Acad. Press, New York, ed. H. Busch) p. 121-150.
- CALLAN, H.G. (1952). A general account of experimental work on Amphibian oocyte nuclei. *Symp. Soc. exp. Biol.* 6 : 243-255.
- CALLAN, H.G. (1955). Recent work on the structure of cell nuclei. In *symposium on the Fine Structure of Cells*. I.U.B.S. publi. series B. 21 : 89.
- CALLAN, H.G. et L. LLOYD (1960). Lampbrush Chromosomes of Crested Newts *Triturus cristatus* (Laurenti). *Philos. Trans. R. Soc. ser B.* 243 : 135-219.
- CHIEFFI, G. et C. LUPO (1963). Identification of Sex Hormones in the ovarian extracts of *Torpedo marmorata* and *Bufo vulgaris*. *Gen. and comp. Endocrin.* 3: 149-152.
- CHURCH, R.B. et B.J. MCCARTHY (1970). Unstable Nuclear RNA Synthesis following Estrogen Stimulation. *Biochem. Biophys. Acta* 199 : 103-114.
- CRIPPA, M. et E.H. DAVIDSON et A.E. MIRSKY (1967). Persistence in Early Amphibian Embryos of Informational RNA'S from the Lampbrush Chromosome Stage of Oögenesis. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 57 : 885-892.
- DALE E. (1962). Steroid Excretion by Larval Frogs. *Gen. and Comp. Endocrin.* 2 : 171-176.
- DALY, M., V.G. ALLFREY et A.E. MIRSKY (1952). Uptake of Glycine-N¹⁵ by components of Cell Nuclei. *J. Gen. Physiol.* 36 : 173.
- DAVIS, B.J. (1964). Disc Electrophoresis. II Method and Application to Human Serum Proteins. *Ann N.Y. Acad. Sci.* 121 : 404-427.
- DURYEE, W.R. (1941). The Chromosomes of the Amphibian Nucleus. In *Cytology, Genetics and Evolution*, (University of Pennsylvania, Bicentennial Conference, Philadelphia), p. 129-141.
- FERRERI, E., V. MAZZO et M. SOCINO (1966). Sodium and Potassium Metabolism in the Newt, (*Triturus cristatus carnifex*) IV Investigations on hypophysectomized Males bearing an Adenohypophysial Heterotropic Chronic Autograft. *Gen. and Comp. Endocrin.* 6 : 156-161.
- FOLLETT, B.K. (1968). The vitellogenic Response in the South African Clawed Toad, (*Xenopus laevis Daudin*) In « invited Discussion » à l'article de R.A. WALLACE et J.N. DUMONT. *J. Cell. Physiol.* 72 : 91-100 .
- FOLLETT, B.K. et M.R. REDSHAW (1968). The Effects of Estrogens and Gonadotrophins on Lipid and Protein Metabolism in *Xenopus laevis* Daudin. *J. Endocrin.* 40 : 439-456.
- GALL, J.G. et H.G. CALLAN (1962). H³-Uridine Incorporation in Lampbrush Chromosomes. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 48 : 562-570.
- GALL, J.G. (1963). In *Cytodifferentiation and Makromolekular Synthesis* (Acad. Press, New-York, ed. M.Locke) p. 119.
- GALLIEN, L. et M. CHALUMEAU-LEFOULGOC (1960). Demonstration of Oestrogenic Steroids in the Juvenile Ovary of *Xenopus laevis* Daudin, and the Oestrogen Cycle in the course of Oviposition. *Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris)* 251 (3) : 460-462.

- HADJI-AZIMI, I. comm. pers.
- HANCOCK, R. (1969). Conservation of Histones in Chromatin during Growth and Mitosis *in vitro*. J. Mol. Biol. 40 : 457-466.
- HANCOCK, R. comm. pers.
- HISAW, F.L. (1959). Endocrine Adaptation of the Mammalian Oestrous Cycle and Gestation. In Comparative Endocrinology (Wiley, New-York, ed. A. Gorbmann) p. 533-552.
- JENSEN, E.V. (1965). Discussion de l'article : The Role of RNA and Protein Synthesis in Estrogen Action, ed G.C. MUELLER. In Mechanisms of Hormone Action (Thieme Verlag, Stuttgart, ed P. Karlson) p. 245.
- KALMAN, S.M. (1957). The Influence of Estrogens on the Electrolytes of the Rat Uterus. J. Pharm. and Exp. Therapeutics 121 : 252-257.
- KANNO, Y. et W.R. LOEWENSTEIN (1963). A study of the Nucleus and Cell Membranes of Oocytes with an intracellular Elektrode. Exp. Cell. Res. 31 : 149-166.
- KROEGER, H. (1963). Chemical Nature of the System controlling Gene Activities in Insect Cells. Nature 200 : 1234-1235.
- KROEGER, H. (1966). Potentialdifferenz und Puff Muster, elektrophysiologische und cytologische Untersuchungen an den Speicheldrüsen von *Chironomus thummi*. Exp. Cell Res. 41 : 64-80.
- LOENING, U.E. (1967). The Fractionation of High Molecular Weight Ribonucleic Acid by Polyacrylamide Gel Elektrophoresis. Biochem. J. 102 : 251-257.
- MACGREGOR, H.C. et H.G. CALLAN (1962). The action of Enzymes on Lampbrush Chromosomes. Q. Jl. micros. Sci. 103 : 173-203.
- MACGREGOR, H.C. (1963). Morphological Variability and its Physiological Origin in Oocyte Nuclei in the crested Newt. Q. Jl. micros. Sci. 104 : 351-368.
- MAICKEL, R.P., W.R. JONDORF et B.B. BRODI (1958). Conjugation and Excretion of Foreign Phenols by Fish and Amphibia. Fed. Proc. 17 : 390.
- MUELLER, G.C. (1965). The Role of RNA and Protein Synthesis in Estrogen Action. In Mechanisms of Hormone Action (Thieme Verlag, Stuttgart, ed. P. Karlson) p. 228-246.
- NAORA, H., H. NAORA, M. IZAWA, V.G. ALLFREY et A.E. MIRSKY (1962). Some Observations on Differences in Composition between the Nucleus and cytoplasm of the Frog oocyte. Proc. Nat. Acad. Sci. 48 : 853-859.
- OZON, R. (1963). Analyse in vivo du métabolisme des œstrogènes au cours de la différenciation sexuelle chez le Triton *Pleurodeles waltlii* Michah. Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris) 257 : 2332-35.
- OZON, R. et H. BREUER (1963). Stoffwechsel von Steroidhormonen bei Vertebraten II Hydroxylierung von Œstradiol-(17 β) zu 6 α -Hydroxyœstradiol-(17 β) und Œstriol in der Leber von Amphibien. Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 333 : 282-285.
- OZON, R. et H. BREUER (1964). Untersuchungen über den Stoffwechsel von Steroidhormonen bei Vertebraten IV Aromatisierung von Testosteron zu Œstrogenen im Ovar des Frosches. (*Rana temporaria*) Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 337 : 61-65.
- OZON, R. (1967). Synthèse *in vitro* des hormones stéroïdes dans le testicule et l'ovaire de l'Amphibien Urodèle : *Pleurodeles waltlii* (Michah). Gen. and Comp. Endocrin. 8 : 214-227.
- PORTMANN-RIEMANN, W. (1970). L'influence de l'œstrogène sur l'ovogenèse chez le triton *Triturus cristatus*. Rev. Suisse de Zool. 77 (4) : 963-969.
- RAO, G.S., H. BREUER et E. WITSCHI (1968). Metabolism of Œstradiol-17 β by Male and Female Larvae of *Xenopus laevis*. Experientia 24 : 1258.
- RICHARDSON, J.P. (1966). Some physical Properties of RNA polymerase. Proc. Nat. Acad. Sci. 55 : 1616-1623.
- RIEMANN, W., MUIR, C. et H.C. MACGREGOR (1969). Sodium and Potassium in Oocytes of *Triturus cristatus*. J. Cell Sci. 4 : 299-304.
- SCHERRER, K. et L. MARCAUD (1968). Messenger RNA in Avian Erythroblasts at the Transcriptional Levels and the Problem of Regulation in Animal Cells. J. Cell Physiol. 72 : 181-212.

- SCHNEIDER, J. (1965). Hydroxylation of Deoxycorticosterone at the 6β , 11, 15, 15β and 16 positions by surviving liver slices of the bullfrog. *Biochemistry* 4 : 689-693.
- SHAPIRO, A.L., E. VINUELA et J.V. MAIZEL (1967). Molecular Weight Estimation of Polypeptide chains by Elektrophoresis in SDS Polyacrylamide Gels. *Biochem. Biophys. Res. comm.* 28 : 815-20.
- SHELTON, K.R. et V.G. ALLFREY (1970). Selective Synthesis of a Nuclear Protein in Liver cells stimulated by Cortisol. *Nature* 228 : 132-134.
- STARKA, L. et E. HORAKOVA (1967). Metabolism of Androst-5-en- 3β -ol-17-one in the frog *Rana esculenta*. *Endocrin. Exper.* 1 : 211-20.
- STARKA, L., W. PORTMANN-RIEMANN, K. SILINK et S. ROHLING (1972) Estrogen Metabolism in the Newt *Triturus cristatus carnifex*. *Gen. and Comp. Endocrin.* 19 : 349-354.
- TENG, C.S. et H. HAMILTON (1970). Regulation of Estrogen of Organspecific Synthesis of a nuclear acidic Protein. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 40 : 1231-1238.
- WANG, T.Y. (1968). Restoration of Histone-inhibited DNA dependent RNA Synthesis by Acidic Chromatin Proteins. *Exp. Cell Res.* 53 : 288-291.
- WEBER, K. et M. OSBORN (1969). The Reliability of Molecular Weight Determinations by Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Elektrophoresis. *J. Biol. Chem.* 244 : 4406-4412.

TABLE DES MATIERES

Dosage des ions dans les ovocytes de *Triturus cristatus carnifex* :

I. 1 Sodium et Potassium dans les ovocytes de <i>Triturus cristatus carnifex</i>	5
I. 2 Influence du traitement au 17β -œstradiol et des hormones gonadotropes sur le contenu ionique des ovocytes du Triton	8

Influence du traitement aux hormones gonadotropes et à l'œstrogène sur l'ovogenèse du triton *Triturus cristatus carnifex* :

— Le comportement de l'œstrogène- ^{14}C chez le Triton.	
II. 1 Le catabolisme des œstrogènes chez le Triton	11
II. 2 La localisation du 17β -œstradiol- ^{14}C chez les Tritons <i>Triturus cristatus carnifex</i>	12

— L'influence du 17β -œstradiol sur le métabolisme des ovocytes du Triton.

II. 3 L'incorporation d'uridine- ^3H <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> et des acides aminés- ^3H dans les ovocytes de <i>Triturus cristatus</i> après un traitement aux œstrogènes	13
III. Analyse des protéines dans les petits et grands ovocytes de <i>Triturus cristatus carnifex</i>	17
IV. Bibliographie	22

